

Mikrokapsel mit steuerbarer oder verzögerter Freisetzung zur  
Immobilisierung von chemischen und/oder biologischen Materialien sowie  
Verfahren zu ihrer Herstellung

10/2005/000927 26 JUL 2006

### Beschreibung

Die Erfindung bezieht sich auf eine Mikrokapsel insbesondere zur Immo-  
bilisierung von chemischem und/oder biologischem Material, sowie ein Ver-  
fahren zu ihrer Herstellung, die in konzentrierten Medien stabil ist, die  
jedoch bei Verdünnung des Mediums schon bei einer relativ geringen  
5 mechanischen Beanspruchung zerstört wird, wodurch das eingeschlossene  
Material freigesetzt wird. Dieses Material kann im Sinne der vorliegenden  
Erfindung sowohl eine chemische Substanz wie z. B. ein Wirkstoff oder ein  
Enzym usw. oder auch biologisches Material wie beispielsweise Mikro-  
organismen, Zellen oder Gemische davon sein. Eine solche Kapsel besteht  
10 aus einem vorzugsweise kugelförmigen Kern, der das immobilisierte  
Material enthält, der von einer Hülle umgeben sein kann, die diesen Kern  
vollständig umschließt.

Weiterhin bezieht sich die Erfindung auf eine Mikrokapsel insbesondere zur  
15 Immobilisierung von chemischem und/oder biologischem Material, sowie  
ein Verfahren zu ihrer Herstellung, die über einen enzymatischen und/oder  
anderen chemischen oder physikalischen Prozess bei relativ geringer  
mechanischen Beanspruchung zeitversetzt zerstört wird, wodurch das  
eingeschlossene Material freigesetzt wird. Dieses Material kann im Sinne  
20 der vorliegenden Erfindung sowohl eine chemische Substanz wie z. B. ein  
Wirkstoff usw. oder auch biologisches Material wie beispielsweise Mikro-  
organismen, Zellen oder Gemische davon sein. Die Kapsel enthält in ihrem  
Inneren beispielsweise ein Enzym, das bei Lagerung der Kapsel inaktiv ist,  
jedoch durch äußere Faktoren aktiviert werden kann. Infolge dieser  
25 Aktivierung spaltet das Enzym eine oder mehrere Komponenten aus denen  
die Kapsel besteht. Dadurch wird die ursprünglich stabile Kapsel mecha-  
nisch instabil und das eingeschlossene Material kann schon bei relativ  
geringer mechanischer Beanspruchung freigesetzt werden.

In der technologischen Praxis kommt es häufig vor, dass verschiedene Stoffe oder Organismen die bei Feuchtigkeit miteinander in Wechselwirkung treten und sich dadurch gegenseitig zerstören, in Gemische eingearbeitet werden müssen. Normalerweise werden die Komponenten einzelnen und in  
5 getrockneter Form eingearbeitet und das Gemisch in trockener Form aufbewahrt.

Will man ähnliche Gemische als Flüssigkonzentrate herstellen sind die Möglichkeiten sehr begrenzt. Entweder man verzichtet auf einige kritische  
10 Komponenten oder man nimmt nur relativ kurze Haltbarkeiten in Kauf.

Durch eine Verkapselung der kritischen Komponenten kann dieser Nachteil kompensiert werden, da dadurch gewährleistet wird, dass diese mit ihrem umgebenden Medium nicht mehr in Wechselwirkung treten. Die eingesetzte  
15 Verkapselungstechnik muss allerdings sicherstellen, dass das eingeschlossene Material bei Bedarf wieder freigesetzt wird, damit das Gemisch seine volle Wirkung entfalten kann.

Der Begriff "Verkapselung" ist in der Fachliteratur sehr verbreitet. Im  
20 technischen Maßstab haben sich bisher hauptsächlich Verfahren durchgesetzt, bei denen erst Trägerpartikel hergestellt werden, die anschließend mit einem Wirkstoff beladen werden. Oft werden auch sogenannte Tauchverfahren, wie sie beispielsweise bei der Herstellung von Medikamenten oder Süßigkeiten eingesetzt werden, als Verkapselung bezeichnet, oder  
25 auch Sprühbeschichtungen wie sie in Chemischen oder Pharmazeutischen Industrie verbreitet sind. Hierbei werden Feststoffe durch Tauchen oder Besprühen mit einer Membran überzogen. Für spezielle Anwendungen werden häufig auch Stoffe durch eine chemische Fällung in Gelpartikel eingeschlossen.

30

Es gibt auch zahlreiche Schutzrechte oder Schutzrechtsanmeldungen, die Mikrokapseln zum Gegenstand haben. So beschreibt beispielsweise die Offenlegungsschrift DE 196 44 343 A1 eine Mikrokapsel mit einem Durchmesser von einigen µm, die in einem Emulsionsprozess hergestellt wird.  
35 Hier werden Öle oder in diesem Öl lösliche Stoffe in einem Grundstoff

beispielsweise Alginat emulgiert und daraus in einem weiteren Emulsionsprozess 0,5 - 20 µm große Kapseln geformt, die dann in der Lebensmittel- oder Pharmaindustrie eingesetzt werden können. Diese Kügelchen eignen sich aber nicht zur Immobilisierung größerer Feststoffpartikel, oder gar lebender Zellen. Auch sind sie nicht für den erfindungsgemäßen Zweck einsetzbar.

In der US - Patentanmeldung 4,389,419 wird ein ähnliches Verfahren zur Verkapselung von Ölen und öllöslichen Substanzen beschrieben. Ähnlich dem o.g. Schutzrecht wird hier eine Emulsion des Öls mit einem Grundstoff (Alginat) in einem ersten Schritt erzeugt. Allerdings werden in diesem Fall dem Alginat noch einige Füllstoffe beigemischt und die Kapseln durch Extrudieren durch eine Düse und Füllen in einem Fällbad geformt und nicht durch einen weiteren Emulsionsschritt. Diese Kapseln sind größer als die im ersten Schutzrecht beschriebenen. Bei höherer mechanischer Beanspruchung bluten die Kapseln aus, ähnlich einem ölgetränkten Schwamm, was sie ebenfalls von denen in der vorliegenden Erfindung beschriebenen unterscheidet.

Eine Klasse für sich sind sogenannte Membran - Kapseln. F. Lim und A. Sun beschreiben in der Zeitschrift „Science Band 210, Seiten 908-910, Jahrgang 1980 eine Kapsel mit einer semipermeablen Membran zur Immobilisierung von lebenden Zellen bei der der Kapselkern aus einer einzigen Schicht eines Poly-L-Lysin / Alginatkomplexes umgeben ist. Bei diesen Kapseln wird eine Austreten der Zellen aus dem Kapselkern verhindert. Jedoch können darin keine Moleküle von der Größe eines Enzyms oder kleiner eingeschlossen werden, da die Membran dafür durchlässig ist. Diese Membrankapsel eignet sich wegen ihrer relativ geringen mechanischen Stabilität darüber hinaus nicht zum Einsatz in technischen Prozessen.

30

In der Patentanmeldung DE 43 12 970.6 wird eine Membrankapsel beschrieben, die auch zur Immobilisierung von Enzymen und Proteinen geeignet ist. Hier ist der Kern, der das Immobilisat enthält mit einer mehrlagigen Hülle umgeben, wobei jede dieser Lagen der gesamten Hülle eine gewisse Eigenschaft verleiht. Über die vorteilhafte Wahl der Hüllenvpoly-

35

mere kann die Durchlässigkeit der Membran so verringert werden, dass die Enzyme in der Kapsel bleiben, während die viel kleineren Substrate und Produkte die Membran passieren können. Diese Kapseln sind bei sehr unterschiedlichen Konzentrationen des umgebenden Mediums stabil. Die

5 Membranen haben eine fest eingestellte, definierte Durchlässigkeit und verhindern so eine Freisetzung des eingeschlossenen Materials.

Die Patentschrift EP 0 782 853 B1 beschreibt eine Mikro kapsel deren Hülle aus mehreren speziellen Schichten aufgebaut ist. Mindestens eine dieser

10 Schichten besteht aus einem Material, das als Funktion einer Innenkonzentration und/oder anderen physikalischen Größen seine Struktur und somit die Porengröße der Hülle verändert. Bei dieser Kapsel, bleibt der Kern immer erhalten. Lediglich die Hülle verändert ihre Durchlässigkeit, was zwar eine teilweise aber nicht eine vollständige Freisetzung des eingeschlossenen Materials ermöglicht.

15

Auch auf dem Gebiet der Waschmittel oder kosmetischen Erzeugnisse gibt es eine Reihe von Veröffentlichungen, die Produkte mit verkapselten Wirkstoffen beschreiben. Alle diese Veröffentlichungen beschreiben jedoch

20 Kapseln, die entweder für biologisches, lebendes Material völlig ungeeignet sind oder nur durch eine äußere relativ hohe Beanspruchung den eingeschlossenen Stoff freisetzen.

So sind beispielsweise aus der Offenlegungsschrift DE 22 15 441 wässrige, flüssige Geschirrspülmittel bekannt, die Kapseln aus den Polymeren Carrageenan, Polyvinylalkohol oder Celluloseether beinhalten bekannt. Die Polymere und die Elektrolyte sind so gewählt, dass die Stabilität der Kapseln im Mittel sowie deren Auflösung bei Verdünnung gewährleistet sind. Die verwendeten Polymere sind jedoch für die Verkapselung von

30 lebendem Material nicht geeignet.

Die britische Patentschrift 1 471 406 betrifft flüssige, wässrige Waschmittel mit Kapseln mit einem Durchmesser von 0,1 bis 5 mm. Diese Kapseln sollen empfindliche Inhaltsstoffe temperatur-, lager- und transportstabiler

35 machen und diese erst unmittelbar vor oder während der Anwendung

freisetzen. Die Inhaltsstoffe sind entweder ganz oder teilweise von den Kapseln eingeschlossen wobei die Kapseln nicht näher definiert sind.

Die deutsche Anmeldung DE 199 18 267 beschreibt ebenfalls flüssige

5 Waschmittel mit verkapselten Inhaltsstoffen. Als Kapseln im Sinne dieser Erfindung sind sämtliche auf dem Markt angebotenen in tensidstabilen Sphären eingeschlossenen Materialien definiert. Eine Methode zur Herstellung der Kapseln wird jedoch nicht beschrieben.

10 In der Praxis kommt es außerdem häufig vor, dass bestimmte Wirkstoffe oder auch Mikroorganismen ihre Wirkung erst zeitversetzt entfalten sollen. Dies kann beispielsweise der Fall sein, wenn eine bestimmte Komponente aus einem Gemisch während dessen Lagerung inaktiv sein soll, ihre volle Wirkung aber bei Anwendung entfalten muss.

15

Ein Beispiel hierfür wären Fruchtsaftkonzentrate, die bei Lagerung in Gelform Wirkstoffe enthalten, die erst bei Verdünnung, also bei Zugabe von Wasser aktiviert werden sollen.

20 Bei Backmischungen ist oft erforderlich, dass bestimmte Komponenten während der Lagerung zusätzlich geschützt werden müssen. Dieser Schutz muss jedoch bei deren Anwendung inaktiviert werden, so dass die Zutaten ihre volle Wirkung entfalten können.

25 Bei chemischen oder biologischen Schädlingsbekämpfungsmitteln ist es oft wünschenswert, dass diese nach deren Ausbringung ihre Wirksamkeit entweder über einen längeren Zeitraum oder erst zeitversetzt entfalten sollen.

30 Durch die erwähnte Verkapselung einzelner Komponenten kann dies erzielt werden. Die eingesetzte Verkapselungstechnik muss allerdings sicherstellen, dass das eingeschlossene Material bei Bedarf wieder freigesetzt wird, damit der Stoff oder Organismus seine volle Wirkung entfalten kann. Diese Freisetzung muss durch äußere Faktoren wie Feuchtigkeit, Verdün-  
35 nung oder die Zugabe eines bestimmten Stoffes steuerbar sein.

Hiervon ausgehend liegt der Erfindung die Aufgabe zugrunde, eine Kapsel zu erzeugen, die sowohl leblose Stoffe als auch lebende Organismen enthalten kann. Gleichzeitig ist ihre mechanische Festigkeit so einstellbar, dass sie in technischen Prozessen eingesetzt werden kann wobei sie in konzentrierten Medien stabil ist und bei Veränderung oder Verdünnung des Mediums bei relativ kleiner mechanischer Belastung zerstört und so das eingeschlossene Material freigesetzt wird. Die Kapsel soll in einer Vielzahl von Medien verwendbar sein, diese nicht durch Ausbluten beeinträchtigen und gleichzeitig ohne Einbußen in ihrer Funktion, getrocknet werden können.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe gemäß einem ersten Aspekt dadurch gelöst, dass in einem ersten Schritt eine Kapsel in Flüssigphase hergestellt wird, die das zu verkapselnde Material vollständig umschließt. In einem zweiten Schritt wird die Kapsel getrocknet. Anschließend wird sie in dem Konzentrat (z. B. Gel) mehrerer Stunden gelagert. Bei Verdünnung der Kapsel-Konzentrat-Suspension bauen sich in der Kapsel so hohe Spannungen auf, dass eine leichte mechanische Beanspruchung zu ihrer Zerstörung und Freisetzung des eingekapselten Materials führt.

Der Kerngedanke der Erfindung gemäß dem ersten Aspekt besteht demnach darin, die Matrix aus der die Kapsel besteht erst zu trocknen und anschließend sie mit einem konzentrierten Medium zu tränken, so dass bei einer Verdünnung des Umgebungsmediums die Kapsel durch die im Inneren auftretende Spannung zerstört wird. Das Material, dass in der Kapselmatrix eingeschlossen ist wird dabei freigesetzt. Um ein Ausbluten des in der Kapsel befindlichen Materials während der Lagerung der Kapsel zu verhindern kann diese von einer Hüllmembran umgeben sein.

Bei geeigneter Wahl der Materialien und der Parameter des Herstellungsverfahrens können in einer solchen Kapsel eine Reihe unterschiedlicher Materialien eingeschlossen werden, wie beispielsweise:

- wasserlösliche oder wasserunlösliche Stoffe

- Fette, Öle, Emulsionen oder Suspensionen
  - Feststoffe
  - lebende oder tote Zellen
  - lebende oder tote Mikroorganismen
- 5      – Gemische aus einer oder mehreren oben genannten Klassen

Diese Kapsel ist wie folgt aufgebaut: Der Kapselkern besteht aus einer Grundsubstanz, aus der eine Matrix gebildet wird, in die das zu immobilisierende Material eingebettet ist. Diese Grundsubstanz muss ein Stoff  
10 sein, der vertropft werden kann, aus dem mittels einer Fällung durch Ioneneinwirkung oder einen Temperaturgradienten vorzugsweise kugelförmige poröse Partikel geformt werden können. Solche Substanzen können z. B. Na-Alginat aber auch Agarose oder Sephadex usw. sein.

15 Wenn durch die Kapsel beispielsweise Enzyme oder Öle, Emulsionen usw. oder auch lebende Zellen oder Organismen eingeschlossen werden sollen oder in allen anderen Fällen, bei denen eine bestimmte mechanische Stabilität der Kapsel eingestellt werden soll, ist es vorteilhaft, den Kapselkern mit einer zusätzlichen Membran zu umgeben. Diese Membran  
20 kann aus einem Polyelektrolytkomplex, der in mehreren Lagen aufgebracht werden kann bestehen. Derartige Polyelektrolytkomplexe werden gebildet aus dem Zusammenwirken eines Polyanion und Polykations. Als Polyanion sind beispielsweise wasserlösliche Zellosederivate wie z. B. Carboxymethylcellulose, Cellulosesulfat oder auch Pectine, Alginate aber auch  
25 synthetische Polymere wie Polyacryl- oder Polymethacrylsäuren usw. zu verwenden. Als Polykation kommen vor allem Naturstoffe wie Chitosan aber auch synthetische Polymere wie Polyethylenimin oder Polydiethyldiallyl-ammoniumchlorid in Betracht.

30 Die o.g. Membran kann aber auch durch ein direktes Beschichten mit verschiedenen Substanzen erzeugt werden. Dieses Beschichten kann entweder während einer eventuellen Trocknung der Kapseln erfolgen oder durch ein nachträgliches Coaten aufgebracht werden. Sollen die Kapseln im Lebensmittel- oder Pharmabereich eingesetzt werden kann diese Beschichtungs-

substanz entweder beispielsweise Schellack oder eine andere für den jeweiligen Bereich zugelassene Substanz sein. Für den chemischen Bereich können dafür auch andere filmbildende Verbindungen wie z. B. Nitrocellulosederivate oder Polyvinylacetate usw. verwendet werden.

5

In manchen Fällen kann es auch von Vorteil sein, eine Kapsel durch eine Kombination der beiden o.g. Ansätze herzustellen. Bei einer derartigen Kapsel hätte man einen zusätzlichen Parameter um die Lagereigenschaften zu beeinflussen und ein Ausbluten des eingeschlossenen Materials und/oder eine Wechselwirkung mit dem umgebenden Medium bei Lagerung zu verhindern wodurch ihre Zuverlässigkeit erhöht wird.

10

15

Ein Verfahren zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Mikrokapsel gemäß erstem Aspekt stellt sich wie folgt dar:

In einem ersten Schritt wird in eine 1-2 %-ige Grundstofflösung, beispielsweise Na-Alginat, das zu verkapselnde Material eingerührt. Anschließend wird ein Füllstoff wie beispielsweise Quarzsand oder Kieselerte beige-mischt, so dass das Gemisch anschließend einen Trockengehalt von z. B. ca. 20-40 % hat. Diese Mixtur wird dann in ein Fällbad eingetropft. Dieses Vertropfen kann durch jedes handelsübliche System erfolgen, dass gleichmäßige Tropfengrößen liefert. Beste Ergebnisse wurden mit sogenannten Zweistoffdüsen erzielt. Dies sind Düsen, bei denen der Tropfenabriss an den Kapillaren durch die die Mixtur gepresst wird durch einen konzentrischen Luftstrom erfolgt.

20

25

Das Fällbad kann eine 1-2 %-ige Salzlösung sein, die ein oder mehrere mehrwertige Metallionen enthält, wie z. B.  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Ba}^{++}$ , usw. Setzt man dem Fällbad eine verdünnte Lösung eines Polykations zu, wie beispielsweise Polyethylenimin, Chitosan usw. entsteht zeitgleich mit dem Ausfällen eine dünne Membran, die ein Ausbluten des eingeschlossenen Materials aus der Kapsel verhindert. Durch wiederholtes Umspülen dieser Kapsel mit unterschiedlich geladenen Polyelektrolytösungen kann eine Membran aufgebaut werden, die der Kapsel eine der Anwendung entsprechende mechanische Festigkeit verleiht. Bei diesem Vorgang ist es von Vorteil, dass dieses

30

35



Umspülen in Form einer Wirbelschicht erfolgt. Hierfür werden die Kapseln in einem geeigneten Gefäß von den Beschichtungslösungen mit einer Geschwindigkeit umspült, die groß genug ist die Kügelchen nicht nur zu verwirbeln, sondern sie auch in Schwebe zu halten.

5

Anschließend werden die Kügelchen gewaschen und getrocknet. Das Trocknen kann mit handelsüblichen Trocknern erfolgen wobei die besten Ergebnisse mit Wirbelschicht- oder Vibrations-Chargentrocknern erzielt wurden. Der Feuchtigkeitsgrad nach der Trocknung soll nicht höher als 3%

10 – 7 % betragen.

Nach dem Trocknen wird die Kapsel in dem konzentrierten Medium z. B. einem Gel mehrere Stunden gelagert. Beste Ergebnisse wurden bei einer Lagerung von über 24 Stunden erzielt. Verdünnt man nun dieses konzen-

15

trierte Medium (Gel) um den Faktor 5, 10, oder höher werden die Kügelchen zerstört und setzen das eingeschlossene Material frei.

Gemäß einem zweiten Aspekt wird die Aufgabe dadurch gelöst, dass in einem ersten Schritt eine Kapsel in Flüssigphase hergestellt wird, die das zu verkapselnde Material vollständig umschließt. In einem zweiten Schritt wird die Kapsel getrocknet. Die Matrixsubstanz der Kapsel oder die Hülle enthält mindestens einen Stoff der entweder enzymatisch oder durch andere physikalische und/oder chemische Prozesse verändert werden kann, so dass die mechanische Stabilität der gesamten Kapsel nicht mehr

20

25

Diese Veränderung kann beispielsweise durch ein Enzym verursacht werden, das die Kapsel enthält und das in der trockenen Kapsel oder unter den Bedingungen unter denen die Kapsel gelagert wird, inaktiv ist. Bei Befeuchten der Kapsel oder durch eine Veränderung der physikalisch-chemischen Parameter des umgebenden Mediums wird das Enzym aktiv. Dadurch spaltet das Enzym einen oder mehrere Komponenten der Kapsel. Diese wird mechanisch instabil und setzt das eingeschlossene Material frei.

30

Dieser Effekt kann aber nicht nur enzymatisch erzeugt werden. Wird die Kapsel nämlich in einem reversiblen Prozess ausgehärtet, der durch Zugabe bestimmter Reagenzien umgekehrt werden kann, kann die Kapsel zu einem späteren Zeitpunkt wieder aufgelöst werden wodurch das eingeschlossene Material freigesetzt wird.

Der Kerngedanke der Erfindung gemäß dem zweiten Aspekt besteht demnach darin, die Matrix und/oder eine eventuelle Hülle aus der die Kapsel besteht so zu wählen, dass sie durch eine Veränderung externer physikalischer und/oder chemischer Parameter zerstört werden kann. Dies kann z.B. durch die Aktivierung eines Enzyms im Inneren der Kapsel erfolgen, das wesentliche Komponenten des Kapselmaterials spaltet. Diese Zerstörung der Kapsel kann aber auch auf anderem Weg erfolgen. Das Material, dass in der Kapselmatrix eingeschlossen ist wird dabei freigesetzt. Um ein Ausbluten des in der Kapsel befindlichen Materials während der Lagerung der Kapsel zu verhindern kann diese von einer Hüllmembran umgeben sein.

Bei geeigneter Wahl der Materialien und der Parameter des Herstellungsverfahrens können in einer solchen Kapsel eine Reihe unterschiedlicher Materialien eingeschlossen werden, wie beispielsweise:

- wasserlösliche oder wasserunlösliche Stoffe
- fette, Öle, Emulsionen oder Suspensionen
- Feststoffe
- lebende oder tote Zellen
- lebende oder tote Mikroorganismen
- Gemische aus einer oder mehreren oben genannten Klassen

Diese Kapsel ist hier wie folgt aufgebaut: Der Kapselkern besteht aus einer Grundsubstanz, aus der eine Matrix gebildet wird, in die das zu immobilisierende Material eingebettet ist. Diese Grundsubstanz muss ein Stoff sein, der vertropft werden kann, aus dem mittels einer Fällung durch Ioneneinwirkung oder einen Temperaturgradienten vorzugsweise

kugelförmige poröse Partikel geformt werden können. Solche Substanzen können z. B. Na-Alginat aber auch Agarose oder Sephadex usw. sein.

Wenn durch die Kapsel beispielsweise Enzyme oder Öle, Emulsionen usw.  
5 oder auch lebende Zellen oder Organismen eingeschlossen werden sollen oder in allen anderen Fällen, bei denen eine bestimmte mechanische Stabilität der Kapsel eingestellt werden soll, ist es vorteilhaft, den Kapselkern mit einer zusätzlichen Membran zu umgeben. Diese Membran kann aus einem Polyelektrolytkomplex, der in mehreren Lagen aufgebracht  
10 werden kann, bestehen. Derartige Polyelektrolytkomplexe werden gebildet aus dem Zusammenwirken eines Polyanion und Polykations. Als Polyanion sind beispielsweise wasserlösliche Zellulosederivate wie z. B. Carboxymethylcellulose, Cellulosesulfat oder auch Pectine, Alginate aber auch synthetische Polymere wie Polyacryl- oder Polymethacrylsäuren usw. zu  
15 verwenden. Als Polykation kommen vor allem Naturstoffe wie Chitosan aber auch synthetische Polymere wie Polyethylenimin oder Polydiethyldiallyl-ammoniumchlorid in Betracht.

Die o.g. Membran kann aber auch durch ein direktes Beschichten mit  
20 verschiedenen Substanzen erzeugt werden. Dieses Beschichten kann entweder während einer eventuellen Trocknung der Kapseln erfolgen oder durch ein nachträgliches Coaten aufgebracht werden. Sollen die Kapseln im Lebensmittel- oder Pharmabereich eingesetzt werden kann diese Beschichtungssubstanz entweder beispielsweise Schellack oder eine andere für den  
25 jeweiligen Bereich zugelassene Substanz sein. Für den chemischen Bereich können dafür auch andere filmbildende Verbindungen wie z. B. Nitro-cellulosederivate oder Polyvinylacetate usw. verwendet werden.

In manchen Fällen kann es auch von Vorteil sein, eine Kapsel durch eine  
30 Kombination der beiden o.g. Ansätze herzustellen. Bei einer derartigen Kapsel hätte man einen zusätzlichen Parameter um die Lagereigenschaften zu beeinflussen und ein Ausbluten des eingeschlossenen Materials und/oder eine Wechselwirkung mit dem umgebenden Medium bei Lagerung zu verhindern wodurch ihre Zuverlässigkeit erhöht wird.

Ein Verfahren zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Mikrokapsel gemäß dem zweiten Aspekt stellt sich wie folgt dar:

Beispiel 1:

5 Kapsel mit enzymatischer Freisetzung

In einem ersten Schritt wird in eine 1-2 %-ige Grundstofflösung, beispielsweise Na-Alginat, das zu verkapselnde Material eingerührt. Diese Grundstofflösung kann auch noch Pectin in ähnlicher Konzentration wie das  
10 Alginat enthalten. Bei Bedarf kann anschließend ein Füllstoff wie beispielsweise Quarzsand oder Kieselerde beigemischt werden, so dass das Gemisch anschließend einen Trockengehalt von z. B. ca. 20-40 % hat. Zusätzlich wird dem Gemisch Pectinase in einer Konzentration von n 0.000 U / kg Gemisch zugesetzt. Diese Mixtur wird dann auf einen pH von ca. 4  
15 gepuffert und in ein Fällbad eingetropft. Dieses Vertropfen kann durch jedes handelsübliche System erfolgen, dass gleichmäßige Tropfengrößen liefert. Beste Ergebnisse wurden mit sogenannten Zweistoffdüsen erzielt. Dies sind Düsen, bei denen der Tropfenabriss an den Kapillaren durch die die Mixtur gepresst wird durch einen konzentrischen Luftstrom erfolgt.

20

Das Fällbad kann eine 1-2 %-ige Salzlösung sein, die ein oder mehrere mehrwertige Metallionen enthält, wie z. B.  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Ba}^{++}$ , usw. Setzt man dem Fällbad eine verdünnte Lösung eines Polykations zu, wie beispielsweise Polyethylenimin, Chitosan usw. entsteht zeitgleich mit dem Ausfällen eine  
25 dünne Membran, die ein Ausbluten des eingeschlossenen Materials aus der Kapsel verhindert. Durch weiderholtes Umspülen dieser Kapsel mit unterschiedlich geladenen Polyelektrolytlösungen kann eine Membran aufgebaut werden, die der Kapsel eine der Anwendung entsprechende mechanische Festigkeit verleiht. Als Polykation können hierzu verdünnte Lösungen von  
30 Chitosan, Polyethylenimin usw. verwendet werden. Als Polyanion können verdünnte Lösungen von Pectinen, Alginat usw. eingesetzt werden. Bei diesem Vorgang ist es von Vorteil, dass dieses Umspülen in Form einer Wirbelschicht erfolgt. Hierfür werden die Kapseln in einem geeigneten Gefäß von den Beschichtungslösungen mit einer Geschwindigkeit umspült,

die groß genug ist, die Kügelchen nicht nur zu verwirbeln, sondern sie auch in Schwebelage zu halten.

- Anschließend werden die Kügelchen gewaschen und getrocknet. Das
- 5 Trocknen kann mit handelsüblichen Trocknern erfolgen wobei die besten Ergebnisse mit Wirbelschicht- oder Vibrations-Chargentrocknern erzielt wurden. Der Feuchtigkeitsgrad nach der Trocknung soll nicht höher als 3-7 % betragen.
- 10 Nach dem Trocknen wird die Kapsel trocken und bei niedriger Temperatur gelagert. Befeuchtet man die Kapsel zu einem späteren Zeitpunkt, wird das Enzym aktiviert und es spaltet die Polyguluronketten der Pectin-Anteile sowie anderer entsprechender Komponenten der Kapsel (z. B. Alginat)
- 15 sowohl im Kern als auch in der Hülle. Dadurch wird die Kapsel soweit destabilisiert, dass kleine mechanische Beanspruchungen ausreichen um die Kapsel zu zerstören und das eingeschlossene Material freizusetzen.

#### Beispiel 2:

##### Kapsel mit physikalisch/chemischer Freisetzung

- 20 Wie bei Beispiel 1 wird auch hier in einem ersten Schritt in eine 1-2 %-ige Grundstofflösung, beispielsweise Na-Alginat, das zu verkapselnde Material eingerührt. Allerdings kann hier auf die Zugabe von Pectin oder der Pectinase verzichtet werden. Anschließend kann wie in Beispiel 1 ein
- 25 Füllstoff wie beispielsweise Quarzsand oder Kieselerde beigemischt werden, so dass das Gemisch anschließend einen Trockengehalt von z. B. ca. 20-40 % hat. Dieser Füllstoff kann jedoch auch fehlen. Diese Mischung wird dann in ein Fällbad eingetropft. Dieses Vertropfen kann durch jedes handelsübliche System erfolgen, dass gleichmäßige Tropfengrößen liefert. Beste Ergebnisse
- 30 wurden mit sogenannten Zweistoffdüsen erzielt. Dies sind Düsen, bei denen der Tropfenabriss an den Kapillaren durch die die Mischung gepresst wird durch einen konzentrischen Luftstrom erfolgt.

Bei Bedarf können die erhaltenen Partikel wie in Beispiel 1 beschrieben beschichtet werden. Obwohl die Kügelchen auch nass gebrauchsfertig sind, ist es vorteilhaft sie zu trocknen.

5 Das Trocknen kann mit handelsüblichen Trocknern erfolgen wobei die besten Ergebnisse mit Wirbelschicht- oder Vibrations-Chargentrocknern erzielt wurden. Der Feuchtigkeitsgrad nach der Trocknung soll nicht höher als 3-7 % betragen.

10 Ein Medium, das die so erhaltenen Kapseln wieder zerstört, ist beispielsweise eine 1-2 %-ige wässrige Lösung von Na-Citrat. Alternativ kann auch eine Lauge mit einem stark alkalischen pH-Wert eingesetzt werden.

15 Bringt man die Kapseln mit einem solchen Medium in Kontakt, wird der reversible Vorgang des Gellierens im Fällbad umgekehrt und die Kapsel löst sich auf.

Setzt man die trockenen Kapseln beispielsweise einer trockenen Backmischung zu, die auch Na-Citrat enthält und befeuchtet diese Mischung, werden die Kügelchen zerstört und setzen das eingeschlossene Material frei.

Die Zerstörung der Kapsel kann auch herbeigeführt werden, indem Komplexbildner im Medium, das die Kapselmatrix umgibt, dieser Ionen entziehen und sie dadurch destabilisieren. Solche Komplexbildner sind häufig in Waschmitteln vorhanden. Entziehen diese einer beispielsweise aus Ca-Alginat bestehenden Kapselmatrix das  $\text{Ca}^{++}$ , wird diese ihre Kugelform in Gel zwar beibehalten, jedoch durch ihre geringe Stabilität bei Verdünnung des umgebenden Gels schon bei leichter mechanischer Beanspruchung vollständig zerstört werden. Hierdurch wird das in der Kapsel eingeschlossene Material freigesetzt. Besitzt eine solche Kapsel eine Hüllmembran, kann man dadurch die Stabilität im Gel bei Einwirkung der Komplexbildner regeln. Bei einem solchen Wirkungsmechanismus kann die Kapsel sowohl in feuchtem als auch getrocknetem Zustand eingesetzt werden.

## Patentansprüche

1. Mikrokapsel insbesondere zum Immobilisieren von Feststoffen, Flüssigkeiten, Zellen, Mikroorganismen und/oder Gemischen aus diesen  
5 Materialien zum Einsatz in der Chemie, Lebensmitteltechnik, und/oder Pharmazie mit einem den zu immobilisierenden Stoff enthaltenden, vorzugsweise kugelförmigen Kern und vorzugsweise eine ihn umschließende Hülle,  
dadurch gekennzeichnet, dass  
10 die Kapsel bei Lagerung in einem konzentrierten Medium stabil ist und bei dessen Verdünnung schon bei geringer mechanischer Beanspruchung zerstört wird,  
das zu immobilisierende Material von der Matrix (dem Kapselkern)  
15 vollständig umschlossen wird,  
der Kapselkern von einer ihn vollständig umschließenden, mehrlagigen Hülle umgeben sein kann,  
20 die Hülle mindestens eine Schicht enthält, die mit der benachbarten darunter liegenden und/oder darüber liegenden kovalent und/oder elektrostatisch verbunden ist,  
mindestens eine Lage der Hülle durch Beschichten mit einem Feststoff auf  
25 den Kapselkern aufgebracht wird,  
mindestens eine Lage der Hülle durch eine membranbildende Flüssigkeit auf dem Kapselkern gebildet wird,  
30 mindestens eine Lage der Hülle sowohl durch Komplexbildung als auch Beschichtung gebildet wird  
2. Mikrokapsel nach Anspruch 1,  
dadurch gekennzeichnet, dass

die Substanz, die die Kernmatrix bildet, ein Stoff ist, der vertropft werden kann, aus dem mittels einer Fällung durch Ioneneinwirkung oder einen Temperaturgradienten vorzugsweise kugelförmige Partikel geformt werden können.

5

3. Mikrokapsel nach Anspruch 1 oder 2,  
dadurch gekennzeichnet, dass  
die Substanz, die den zu immobilisierenden Stoff im Inneren der Kernmatrix umgibt ein Öl sein kann oder eine andere mit der Matrixsubstanz  
10 nicht mischbare Flüssigkeit wie z. B. ein Kohlenwasserstoff, ein Kohlenwasserstoffgemisch.

4. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 3,  
dadurch gekennzeichnet, dass  
15 der zu immobilisierende Stoff mit einer zweiten im Kapselinneren befindlichen Substanz die mit der Matrixsubstanz eine Phasengrenze ausbildet eine Suspension bildet.

5. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 4,  
20 dadurch gekennzeichnet, dass  
der zu immobilisierende Stoff mit einer zweiten im Kapselinneren befindlichen Substanz, die mit der Matrixsubstanz eine Phasengrenze ausbildet, eine flüssig/flüssig Emulsion bildet.

25 6. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 5,  
dadurch gekennzeichnet, dass  
die Kernmatrix oder mindestens eine Phase im Kapselkern einen Feststoff enthält.

30 7. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 6,  
dadurch gekennzeichnet, dass  
mindestens eine Phase im Kapselkern eine Flüssigkeit enthält.

8. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 7,  
35 dadurch gekennzeichnet, dass



mindestens eine Phase im Kapselkern Zellen enthält.

9. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 8,  
dadurch gekennzeichnet, dass

5 mindestens eine Phase im Kapselkern Mikroorganismen enthält.

10. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 9,  
dadurch gekennzeichnet, dass

das Beschichten der Kapseln in einem Wirbelschicht- oder Fließbettver-  
fahren erfolgt.

11. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 10,  
dadurch gekennzeichnet, dass

sie ohne signifikante Einbußen an Funktionalität getrocknet werden kann.

12. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 11,  
dadurch gekennzeichnet, dass

das Trocknen der Kapseln in einem Wirbelschicht- oder Fließbettverfahren  
erfolgt.

13. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 12,  
dadurch gekennzeichnet, dass

beim ihrem Trocknen in einem Wirbelschicht- oder Fließbettverfahren in  
die Kolonne zusätzlich ein Feststoff eingeblasen wird, der auf der  
Kapseloberfläche eine Membran bildet.

14. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 13,  
dadurch gekennzeichnet, dass

alle Stoffe aus denen sie besteht lebensmittelzugelassen sein können.

15. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 14, bei deren Herstellung  
einige, mehrere oder alle der nachfolgenden Schritte durchgeführt werden,  
von denen auch einige Schritte mehrmals wiederholt werden können:

- Lösen oder Suspendieren des zu verkapselnden Materials in einem Grundstoff
- Vertropfen dieser Grundstoff-Suspension oder Lösung
- Füllen der Tropfen
- 5    – Versiegeln der Tropfen bei gleichzeitiger Fällung durch Umspülen der Kügelchen in einem Fällbad, das neben dem Fällreagenz auch eine ionische Polymerlösung enthält
- Spülen und Suspendieren der durch Fällung entstandenen Kügelchen in einer Waschflüssigkeit
- 10   – Umspülen der Kügelchen mit einer kationischen oder anionischen Polymerlösung und Ausbilden einer kationischen oder anionischen Ladung an der Kugeloberfläche
- Waschen der Kügelchen mit einer Waschflüssigkeit
- Umspülen der Kügelchen mit einer anionischen oder kationischen Polymerlösung und
- 15   – Ausbilden einer anionischen oder kationischen Ladung an der Kugeloberfläche
- Spülen und Suspendieren der durch Fällung entstandenen Kügelchen in einer Waschflüssigkeit
- 20   – Trocknen der Kügelchen
- Einbringen (Suspendieren) der getrockneten Kügelchen in ein konzentriertes Medium wie z. B. einem Gel
- Lagern der Kügelchen in diesem konzentrierten Medium über einen bestimmten Zeitraum.

25

16. Mikrokapsel nach einem der vorangegangenen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die gezielte Zerstörung der Kapsel dadurch erreicht wird, indem Komplexbildner im Medium, das die Kapselmatrix umgibt, dieser Ionen  
30    entziehen und die Kapsel destabilisieren.

17. Mikrokapsel insbesondere zum Immobilisieren von Feststoffen, Flüssigkeiten, Zellen, Mikroorganismen und/oder Gemischen aus diesen

Materialien zum Einsatz in der Chemie, Lebensmitteltechnik, und/oder Pharmazie mit einem den zu immobilisierenden Stoff enthaltenden, vorzugsweise kugelförmigen Kern und vorzugsweise eine ihn umschließende Hülle,

5 dadurch gekennzeichnet, dass die Kapsel bei Lagerung stabil ist und mindestens eine Komponente enthält, die durch eine spätere Veränderung der physikalischen und/oder chemischen Parameter des umgebenden Mediums zu einer Zerstörung der Kapsel und Freisetzung des eingeschlossene Materials führt,

10

die in der Kapsel enthaltene Komponente, die durch eine spätere Veränderung der physikalischen und/oder chemischen Parameter des umgebenden Mediums zu einer Zerstörung der Kapsel und Freisetzung des eingeschlossenen Materials führt, ein Enzym ist, das bestimmte Stoffe der Kapselmatrix und/oder Kapselmembran spalten kann,

15

die in der Kapsel und/oder Kapselmembran enthaltene Komponente, die durch eine spätere Veränderung der physikalischen und/oder chemischen Parameter des umgebenden Mediums zu einer Zerstörung der Kapsel und Freisetzung des eingeschlossenen Materials führt, eine Substanz ist, die durch ein in der Kapsel enthaltenes Enzym gespalten werden kann,

20

die in der Kapsel enthaltene Komponente, die durch eine spätere Veränderung der physikalischen und/oder chemischen Parameter des umgebenden Mediums zu einer Zerstörung der Kapsel und Freisetzung des eingeschlossenen Materials führt, eine Substanz ist, die in einem reversiblen Prozess durch Ioneneinwirkung gefällt werden kann,

25

das zu immobilisierte Material von der Matrix (dem Kapselkern) vollständig umschlossen wird,

30

der Kapselkern von einer ihn vollständig umschließenden, mehrlagigen Hülle umgeben sein kann,

wobei die Hülle mindestens eine Schicht enthält, die mit der benachbarten darunter liegenden und/oder darüber liegenden kovalent und/oder elektrostatisch verbunden ist,

- 5    mindestens eine Lage der Hülle durch Beschichten mit einem Feststoff auf den Kapselkern aufgebracht wird,

mindestens eine Lage der Hülle durch eine membranbildende Flüssigkeit auf dem Kapselkern gebildet wird und/oder

10

mindestens eine Lage der Hülle sowohl durch Komplexbildung als auch Beschichtung gebildet wird.

18. Mikrokapsel nach Anspruch 17,

- 15    dadurch gekennzeichnet, dass

die Substanz, die die Kernmatrix bildet, ein Stoff ist, der vertropft werden kann, aus dem mittels einer Fällung durch Ioneneinwirkung oder einen Temperaturgradienten vorzugsweise kugelförmige Partikel geformt werden können.

20

19. Mikrokapsel nach Anspruch 17 oder 18,

dadurch gekennzeichnet, dass

die Substanz, die den zu immobilisierenden Stoff im Inneren der Kernmatrix umgibt, ein Öl sein kann oder eine andere mit der Matrixsubstanz

- 25    nicht mischbare Flüssigkeit wie z. B. ein Kohlenwasserstoff, ein Kohlenwasserstoffgemisch.

20. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 17 bis 19,

dadurch gekennzeichnet, dass

- 30    der zu immobilisierende Stoff mit einer zweiten im Kapselinneren befindlichen Substanz, die mit der Matrixsubstanz eine Phasengrenze ausbildet, eine Suspension bildet.

21. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 17 bis 20,

- 35    dadurch gekennzeichnet, dass

- der zu immobilisierende Stoff mit der einer zweiten im Kapselinneren befindlichen Substanz, die mit der Matrixsubstanz eine Phasengrenze ausbildet, eine flüssig/flüssig Emulsion bildet.
- 5 22. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 17 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Kernmatrix oder mindestens eine Phase im Kapselkern einen Feststoff enthält.
- 10 23. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 17 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eine Phase im Kapselkern eine Flüssigkeit enthält.
24. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 17 bis 23, 15 dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eine Phase im Kapselkern Zellen enthält.
25. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 17 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass 20 mindestens eine Phase im Kapselkern Mikroorganismen enthält.
26. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 17 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass das Beschichten der Kapseln in einem Wirbelschicht- oder Fließbett- 25 verfahren erfolgt.
27. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 17 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass sie ohne signifikante Einbußen an Funktionalität getrocknet werden kann. 30
28. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 17 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass das Trocknen der Kapseln in einem Wirbelschicht- oder Fließbettverfahren erfolgt.

29. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 17 bis 28,  
dadurch gekennzeichnet, dass  
beim ihrem Trocknen in einem Wirbelschicht- oder Fließbettverfahren in  
die Kolonne zusätzlich ein Feststoff eingeblasen wird, der auf der  
5 Kapseloberfläche eine Membran bildet.

30. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 17 bis 29,  
dadurch gekennzeichnet, dass  
alle Stoffe aus denen sie besteht lebensmittelzugelassen sein können.

31. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 17 bis 30, bei deren Herstellung  
einige, mehrere oder alle der nachfolgenden Schritte durchgeführt werden,  
von denen auch einige Schritte mehrmals wiederholt werden können:

- 15 – Lösen oder Suspendieren des zu verkapselnden Materials in einem Grundstoffgemisch
- Beimischen eines Enzyms, das bestimmte Komponenten dieses Gemisches und/oder Kapselbeschichtung spalten kann
- Vertropfen dieser Grundstoff-Suspension oder Lösung
- Füllen der Tropfen
- 20 – Versiegeln der Tropfen bei gleichzeitiger Fällung durch Umspülen der Kügelchen in einem Fällbad, das neben dem Fällreagenz auch eine ionische Polymerlösung enthält
- Spülen und Suspendieren der durch Fällung entstandenen Kügelchen in einer Waschflüssigkeit
- 25 – Umspülen der Kügelchen mit einer kationischen oder anionischen Polymerlösung und Ausbilden einer kationischen oder anionischen Ladung an der Kugeloberfläche
- Waschen der Kügelchen mit einer Waschflüssigkeit
- Umspülen der Kügelchen mit einer anionischen oder kationischen  
30 Polymerlösung und Ausbilden einer anionischen oder kationischen Ladung an der Kugeloberfläche
- Spülen und Suspendieren der durch Fällung entstandenen Kügelchen in einer Waschflüssigkeit

- Trocknen der Kügelchen
- Einbringen (Suspendieren) der getrockneten Kügelchen in ein konzentriertes Medium wie z. B. einem Gel
- Lagern der Kügelchen in diesem konzentrierten Medium über einen bestimmten Zeitraum.

5

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2005/000927

| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b><br>IPC 7 A61K9/16   |  |  |
|--|--|--|
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC  |  |  |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b><br>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br>IPC 7 A61K   |  |  |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  |  |  |
| Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)<br>EPO-Internal, PAJ, WPI Data, EMBASE, BIOSIS  |  |  |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>  |  |  |
| Category *   | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No.                              |
| X  | SCHNEIDER S ET AL: "Multilayer capsules: a promising microencapsulation system for transplantation of pancreatic islets"<br>BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB,<br>vol. 22, no. 14, 2001, pages 1961-1970,<br>XP004245913<br>ISSN: 0142-9612<br>the whole document<br>paragraph '02.3! | 1-31   |
| X  | POMMERSHEIM R: "Die Verkapselung"<br>MEHRSCHICHTIGE<br>POLELEKTROKOMPLEX-MIKROKAPSELSYSTEME ZUR<br>IMMOBILISIERUNG VON ENZYMEN UND LEBENDEN<br>ZELLEN, 1994, pages 1-32, XP002968623<br>the whole document   | 1-31   |
| -/--   |  |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.   |  |  |
| * Special categories of cited documents :<br>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance<br>"E" earlier document but published on or after the international filing date<br>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)<br>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means<br>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed<br>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention<br>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone<br>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art<br>"&" document member of the same patent family |  |  |
| Date of the actual completion of the international search  |  | Date of mailing of the international search report |
| 24 June 2005   |  | 06/07/2005   |
| Name and mailing address of the ISA<br>European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,<br>Fax (+31-70) 340-3016  |  | Authorized officer<br>Felder, C                    |



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2005/000927

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| X          | <p>POMMERSHEIM R: "Physikalische Eigenschaften der Kapsel"<br/>MEHRSCHICHTIGE<br/>POLELEKTROKOMPLEX-MIKROKAPSELSYSTEME ZUR<br/>IMMOBILISIERUNG VON ENZYMEN UND LEBENDEN<br/>ZELLEN, 1994, pages 88-98, XP002968624<br/>the whole document</p>   | 1-31                  |
| X          | <p>POMMERSHEIM R: "Verkapselung von lebenden Zellen"<br/>MEHRSCHICHTIGE<br/>POLELEKTROKOMPLEX-MIKROKAPSELSYSTEME ZUR<br/>IMMOBILISIERUNG VON ENZYMEN UND LEBENDEN<br/>ZELLEN, 1994, pages 1-24, XP002968625<br/>the whole document</p>  | 1-31                  |
| X          | <p>RILLING P ET AL: "Encapsulation of cytochrome C by multilayer microcapsules. A model for improved enzyme immobilization"<br/>JOURNAL OF MEMBRANE SCIENCE, ELSEVIER<br/>SCIENTIFIC PUBL.COMPANY. AMSTERDAM, NL,<br/>vol. 129, no. 2, 9 July 1997 (1997-07-09),<br/>pages 283-287, XP004084481<br/>ISSN: 0376-7388<br/>the whole document</p>        | 1-31                  |
| X          | <p>GAUMANN A ET AL: "Effect of media composition on long-term in vitro stability of barium alginate and polyacrylic acid multilayer microcapsules"<br/>BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS<br/>BV., BARKING, GB,<br/>vol. 21, no. 18, September 2000 (2000-09),<br/>pages 1911-1917, XP004207026<br/>ISSN: 0142-9612<br/>the whole document</p> | 1-31                  |
| X          | <p>POMMERSHEIM R ET AL: "IMMOBILIZATION OF ENZYMES BY MULTILAYER MICROCAPSULES"<br/>MACRO CHEM PHYS,<br/>vol. 195, 1994, pages 1557-1567,<br/>XP000892044<br/>the whole document</p>  | 1-31                  |

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
 IPK 7 A61K9/16

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RESEARCHIERTE GEBIETE**

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
 IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, EMBASE, BIOSIS

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile  | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| X          | SCHNEIDER S ET AL: "Multilayer capsules: a promising microencapsulation system for transplantation of pancreatic islets"<br>BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB,<br>Bd. 22, Nr. 14, 2001, Seiten 1961-1970,<br>XP004245913<br>ISSN: 0142-9612<br>das ganze Dokument<br>Absatz '02.3! | 1-31               |
| X          | POMMERSHEIM R: "Die Verkapselung"<br>MEHRSCICHTIGE<br>POLELEKTROKOMPLEX-MIKROKAPSELSYSTEME ZUR<br>IMMOBILISIERUNG VON ENZYMEN UND LEBENDEN<br>ZELLEN, 1994, Seiten 1-32, XP002968623<br>das ganze Dokument  | 1-31               |
|            | -/-   |                    |

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☐ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

24. Juni 2005

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

06/07/2005

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde  
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Felder, C

| C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN |   |                    |
|--|---|--------------------|
| Kategorie*   | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile  | Betr. Anspruch Nr. |
| X  | <p>POMMERSHEIM R: "Physikalische Eigenschaften der Kapsel"</p> <p>MEHRSCICHTIGE</p> <p>POLELEKTROKOMPLEX-MIKROKAPSELSYSTEME ZUR IMMOBILISIERUNG VON ENZYMEN UND LEBENDEN ZELLEN, 1994, Seiten 88-98, XP002968624</p> <p>das ganze Dokument</p> <p>-----</p>   | 1-31               |
| X  | <p>POMMERSHEIM R: "Verkapselung von lebenden Zellen"</p> <p>MEHRSCICHTIGE</p> <p>POLELEKTROKOMPLEX-MIKROKAPSELSYSTEME ZUR IMMOBILISIERUNG VON ENZYMEN UND LEBENDEN ZELLEN, 1994, Seiten 1-24, XP002968625</p> <p>das ganze Dokument</p> <p>-----</p>  | 1-31               |
| X  | <p>RILLING P ET AL: "Encapsulation of cytochrome C by multilayer microcapsules. A model for improved enzyme immobilization"</p> <p>JOURNAL OF MEMBRANE SCIENCE, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBL.COMPANY. AMSTERDAM, NL, Bd. 129, Nr. 2, 9. Juli 1997 (1997-07-09), Seiten 283-287, XP004084481</p> <p>ISSN: 0376-7388</p> <p>das ganze Dokument</p> <p>-----</p>       | 1-31               |
| X  | <p>GAUMANN A ET AL: "Effect of media composition on long-term in vitro stability of barium alginate and polyacrylic acid multilayer microcapsules"</p> <p>BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, Bd. 21, Nr. 18, September 2000 (2000-09), Seiten 1911-1917, XP004207026</p> <p>ISSN: 0142-9612</p> <p>das ganze Dokument</p> <p>-----</p> | 1-31               |
| X  | <p>POMMERSHEIM R ET AL: "IMMOBILIZATION OF ENZYMES BY MULTILAYER MICROCAPSULES"</p> <p>MACRO CHEM PHYS, Bd. 195, 1994, Seiten 1557-1567, XP000892044</p> <p>das ganze Dokument</p> <p>-----</p>   | 1-31               |